

ANTECEDENTES HISTÓRICOS

El estudio de la estructura de los organismos es el objeto fundamental de las ciencias morfológicas, y constituye la parte más antigua y quizás la más extensa de la biología.

El conocimiento empírico de las técnicas histológicas puede remontarse a los egipcios, con el embalsamiento de cadáveres y el uso de los fijadores para la conservación de los tejidos.

Al principio, el estudio de las estructuras se hacía a simple vista. El ejemplo más antiguo del empleo de colorantes en la anatomía macroscópica, es el relleno de los vasos con sustancias coloreadas, y al parecer fue Bengarius a Capri (1502 a 1550) el primero que usó este procedimiento. Otro método es el teñido en rojo del tejido óseo en proliferación, después de la alimentación de animales con Rubia (Rubia Tinctorum), observaciones hechas por el médico francés Antonio Mizaldus en 1567.

Pronto, comenzaron a usarse lentes simples como auxiliares para distinguir detalles finos y texturas. Malpighi empleó esos lentes en sus estudios, que fueron publicados entre 1661 y 1666. Robert Hooke (1635-1703) hace los primeros cortes histológicos, significativamente importantes por el descubrimiento de la célula, y publicó en 1665 un libro denominado "Micrographia".

Leeuwenhoek perfeccionó las lentes compuestas que permitieron aumentos muchos mayores. A principios del siglo XIII, la morfología fue dividida en una parte macroscópica y otra microscópica. El advenimiento del microscopio abrió una multitud de disciplinas científicas, entre ellas la histología. Para facilitar sus exámenes microscópicos, Leeuwenhoek en 1714 empleó una solución alcohólica de azafrán para teñir cortes de músculo; la desecación espontánea fue la primera forma de fijación.

En 1849, Goeppert y Cohn estudian la corriente protoplásmica de las células vegetales, con la ayuda de la rubia y el carmín. En 1851, Alfonso Oorti emplea por primera vez el carmín para teñir cortes de tejidos animales. En 1854, Hartig reconoce la afinidad de los núcleos de células muertas por el carmín. En 1856, Henry Perkin obtiene el primer colorante de anilina. Hasta aquí ninguno puede ser considerado como el fundador de la técnica de teñido; éste mérito se le a asignado a Joseph Gerlach, quien en 1858 describe el teñido con carmín de los núcleos en células de diferentes tejidos animales.

El verdadero éxito en la búsqueda de procedimientos útiles de tinción solo se obtuvo por Bencke, en 1862, los colorantes de anilina para teñir preparaciones microscópicas. En 1863, Wilhelm Waldeyer empleó la fucsina y ensayó el teñido de las fibras nerviosas con extracto de palo de campeche (hematoxilina), abriendo con ello un horizonte de trabajo completamente nuevo.

El nacimiento de las anilinas ocasionó que la técnica histológica progresara a grandes pasos; se fueron desarrollando las procedimientos en el uso de los microtomos, endureciendo los especímenes mediante congelación, inclusión de parafina, celoidina, gelatina y otras sustancias semejantes.

En 1864 Edwin Klebs usó en forma conveniente la parafina como medio de inclusión, técnica perfeccionada por Paul Mayer (1848-1923).

El primer microtomo para ser cortes de material congelado fue construido por el fisiólogo Rutherford en el año 1871, usando mezclas frigoríficas o pulverización de éter.

El método de la coloración regresiva de preparaciones microscópicas, recomendado en 1875 por Hermann, llegó a adquirir fundamental importancia pero solo despues de que Flemming empleó en gran escala y con éxito dicho método, en sus estudios sobre núcleo, en 1881.

En 1885, Carl Weigert da a conocer su método perfeccionado de teñido con hematoxilina de la vaina medular.

En 1867, Eduard Schwarz introdujo a la técnica microscópica el doble tñido, utilizando el carminato de amonio y el ácido pícnico; más tarde Christian Gottfried Ehrenberg usó el polvo de índigo y el carmín para el estudio microscópico de organismos vivos. Las técnicas microscópicas se limitaron, por muchos años, a pocos colorantes.

En 1869 fue introducida por Edwin Klebe la gelatina glicerínada como medio de inclusión, más tarde Kaiser, en 1880, usó solamente la gelatina con endurecimiento posterior mediante un fijador.

* El primer microtomo para hacer cortes de material congelado fue construido por el fisiólogo Rutherford, en el año 1871, usando mezclas frigoríficas o pulverización de éter. Más adelante, siguiendo el ejemplo de John, en 1897 se generalizó el empleo del ácido carbónico líquido.

En 1873, Camillo Golgi recomendó por primera vez el método de impregnación argéntica para las investigaciones del sistema nervioso central.

Los medios de inclusión adecuados siguieron siendo objeto principal de búsqueda y en 1876 Walter Flemming usó el jabón transparente y Mathias Duval recomendó el colodión; ambos fueron desplazados por la celoidina, introducida por Paul Schiefferdecker en 1882.

El método de la coloración regresiva de preparaciones microscópicas, recomendado en 1876 por Hermann, llegó a adquirir fundamental importancia pero sólo después de que Flemming empleó en gran escala y con éxito dicho método, en sus estudios sobre núcleo, en 1881. La combinación de hematoxilina-eosina fue utilizada por Carl David Wilhelm Busch, en 1877, por Renalt en 1879 y por William Stirling en 1881; desde entonces se ha convertido en la técnica histológica más usada. La orceína, que es un colorante natural de origen vegetal obtenido de *Rosella tinctoria*, fue utilizada por primera vez por Wedl en 1875, y fue Taenzer, en 1891, quien descubrió su especial afinidad por el tejido elástico. De 1879 a 1894, Paul Ehrlich contribuye al desarrollo de la técnica de tñido por sus estudios acerca del empleo de los colorantes de anilina en trabajos histológicos.

En 1885, Carl Weigert da a conocer su método perfeccionado de tñido con hematoxilina de la valna medular. En 1886, Paul Ehrlich descubrió la hematoxilina ácida, en 1886 se dio a conocer la hematoxilina de Delafield, y en 1892 fue publicado el modo de aplicación de la hematoxilina férrica de Martín Heidenhain. Entre 1876 y 1891 fue postulada una teoría física para explicar el mecanismo de las tñiciones, de la cual Fisher fue el pionero y Witt un seguidor de esta teoría, quien dio una explicación más amplia y la llamó "teoría quinónica".

Los adelantos en esta época se caracterizaron por el repetido afán de mejorar más las aplicaciones de la técnica de tñido mediante nuevas combinaciones. Surgen las coloraciones triples o tricrómicas

cuando en 1889 Van Gieson utilizó su triple coloración con hematoxilina, fucsina ácida y ácido pícnico.

Nuevo impulso a la técnica histológica dio la aplicación de otras sustancias colorantes, sobre todo para las grasas, con el empleo de Sudán III, por Daddi en 1896, el rojo escarlata usado por Michaelis en 1901, y el sulfato de nilo empleado por Lorrain Smith en 1908.

[Ranvier, Altman, Caldwell y Minot tomaron parte en el perfeccionamiento de las técnicas de corte, con el resultado de que en 1892, con la introducción del microtomo rotatorio de Minot, se pudieron preparar cortes de hasta un micrómetro de espesor. Paralelamente, con el perfeccionamiento de los microtomos, fueron mejorándose las técnicas de inclusión y fijación.] Entre 1889 y 1890, Altman desarrolló su método de fijación mediante liofilización, desecación al vacío previa congelación a -20°C ; en 1892 Tillant y en 1893 Blum, señalaron las propiedades del formol como fijador; estos procedimientos preservaban los tejidos para su futuro estudio, y modificaban su consistencia de manera que los cortes podían prepararse más fácilmente.

Entre 1888 y 1902 un grupo de científicos, Ehrlich, Knescht, Miescher, Mayer, Unna, etc., elaboraron una teoría química de las tinciones usando y combinando ampliamente los colorantes para destacar las diferentes estructuras de los tejidos.

[De 1889 a 1929 se difundió ampliamente el empleo de los colorantes de anilina, se desarrollaron nuevos colorantes y técnicas de tinción; posteriormente, los amplios avances histoquímicos han sido aplicados a la Histología, surgiendo gran cantidad de métodos histoquímicos, usados extensamente antes de ser explicados.]

De 1923 a 1929, Wilhelm V. Moellendorff lleva a cabo investigaciones para esclarecer la teoría del teñido histológico, y en 1924 establece una diferencia entre el teñido "por precipitación" y el teñido "por impregnación".

[Actualmente la técnica histológica cuenta con contribuciones valiosísimas, de las que aquí es imposible hacer una reseña histórica, afortunadamente la mayoría de los modernos métodos histológicos llevan el nombre de su descubridor y/o su modificador, además de la fecha en que esto ocurrió, de manera que contamos con un arsenal de información más o menos precisa que permite tener noción clara de los avances científicos que en esta área se suceden.]